

**PENGARUH DIET TINGGI PROTEIN, RENDAH
KARBOHIDRAT DAN RENDAH LEMAK PADA
FUNGSI GINJAL DAN HATI
TIKUS GALUR *WISTAR* JANTAN**

*EFFECTS OF HIGH-PROTEIN, LOW-CARBOHYDRATE,
LOW-FAT DIETS, ON KIDNEY AND LIVER FUNCTION IN
WISTAR MALE RATS*

NUR UPIK EN MASRIKA



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

**PENGARUH DIET TINGGI PROTEIN, RENDAH
KARBOHIDRAT DAN RENDAH LEMAK PADA FUNGSI
GINJAL DAN HATI TIKUS GALUR *WISTAR* JANTAN**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Ilmu Biomedik

Disusun dan diajukan oleh

NUR UPIK EN MASRIKA

Kepada

**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2020

TESIS**PENGARUH DIET TINGGI PROTEIN, RENDAH
KARBOHIDRAT DAN RENDAH LEMAK PADA FUNGSI
GINJAL DAN HATI TIKUS GALUR *WISTAR* JANTAN**

Disusun dan diajukan oleh

NUR UPIK EN MASRIKA
Nomor Pokok P062181022

telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal 26 Agustus 2020
dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat,



dr. M. Aryadi Arsyad, M.Biom.Sc.,Ph.D

Ketua



DR. dr. Ika Yustisia, M.Sc

Anggota

Ketua Program Studi
Ilmu Biomedik



DR. dr. Ika Yustisia, M.Sc

Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin,



Prof. DR. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Nur Upik En Masrika
Nomor Mahasiswa : P062181022
Program Studi : Ilmu Biomedik

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambil alihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar,

Yang menyatakan



Nur Upik En Masrika

PRAKATA

Segala Puji dan syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan segala rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis dengan judul **“Pengaruh Diet Tinggi Protein, Rendah Karbohidrat dan Rendah Lemak pada Fungsi Ginjal dan Hati Tikus Galur Wistar Jantan”** sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Magister Ilmu Biomedik Konsentrasi Fisiologi Pascasarjana Universitas Hasanuddin Makassar.

Penelitian dilakukan berdasarkan informasi tentang tingginya angka prevalensi penyakit yang menjadi penyumbang dari dampak obesitas seperti penyakit jantung, diabetes melitus, stroke, dll, membuat penulis ingin mengeksplorasi jenis-jenis diet dalam menjaga pola makan individu. Jenis diet yang penulis merasa tertarik adalah jenis diet tinggi protein, dimana diet tinggi protein dilansir memiliki keuntungan ganda yakni selain dapat menurunkan berat badan, diet ini juga dapat mengurangi nafsu makan yang merupakan alasan konsumen dalam menjaga pola makan.

Namun dalam pencarian referensi didapatkan bahwa diet tinggi protein ini masih menjadi kontroversi, ada yang mengatakan bahwa diet ini selain memiliki dampak positif, juga memiliki dampak negatif yakni terhadap organ hati sebagai tempat metabolime energi dan organ lainnya yakni ginjal sebagai tempat pembuangan zat sisa metabolisme. Berbagai literatur saling mendebatkan hasil penelitiannya, sehingga penulis merasa tertarik untuk

membuktikan apakah benar diet ini memiliki efek yang merugikan untuk organ ginjal dan hati dalam jangka panjang dengan memodifikasi nilai persentasi makronutriennya. Penulis menyadari bahwa sebelum dilakukan penelitian ini pada manusia yang tentunya dibatasi dengan etik, dampak negatif yang mungkin muncul, baik permanen atau temporari yang mungkin akan merugikan manusia. Maka dari itu penulis melakukan penelitian ini pada hewan coba tikus galur Wistar, dengan harapan dapat menjadi solusi dan literatur dalam pemilihan jenis diet untuk menjaga pola makan pada individu dalam mencegah atau mengurangi dampak obesitas.

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, tesis ini tidak akan mungkin dapat diselesaikan dengan baik. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih sedalam-dalamnya kepada para pihak:

1. Bapak Prof. DR. Ir. Jamaluddin, M.Sc selaku Dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin
2. DR. dr. Ika Yustisia, M.Sc. selaku Kepala Program Studi Ilmu Biomedik Pascasarjana Universitas Hasanuddin dan juga sebagai Pembimbing Tesis, beliau sangat membantu dalam segala keperluan, selama memulai hingga selesai proses penelitian, mengoreksi tesisi ini hingga selesai. Beliau bagai Ibu untuk kami para mahasiswanya, terima kasih Dokter telah meluangkan waktu dan tenaganya.
3. dr. M. Aryadi Arsyad, M.Biom.Sc., Ph.D. selaku Ketua Konsentrasi Fisiologi Program Studi Ilmu Biomedik Pascasarjana Universitas

Hasanuddin dan juga sebagai Ketua Pembimbing Tesis penulis. Beliau membantu mulai dari bimbingan ide penelitian, proses penelitian sejak awal hingga akhir, mengoreksi proposal hingga tesis ini, beliau sangat direpotkan oleh penulis dengan bertubi-tubi konsultasi, dan selalu merespon kesulitan yang dihadapi penulis. Terima kasih banyak Dokter atas segala bantuannya.

4. Ibu DR. Yulia Yusrini Djabir, S.Si, M.Biomed.Sc.Apt, dr. Muhammad Husni Cangara, Ph.D.,Sp.PA.,DFM, dr. Andriany Qanitha, M.Sc.,Ph.D selaku penguji dan pemberi banyak masukan yang membangun. Terima kasih Ibu dan Dokter-dokter sekalian.
5. Para dosen Ilmu Biomedik yang telah memberi ilmu selama proses studi hingga menyediakan waktu diluar jam kuliah untuk membimbing penulis. Terima kasih Dokter.
6. Ibu Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Khairun Ternate dr. Marhaeni Hasan, Sp.A, MM. yang telah membantu dari awal proses pendaftaran, pengajuan beasiswa, hingga kesempatan kegiatan yang diberikan selama di Makassar untuk mendukung penulis dalam menyelesaikan studi, terima kasih Dokter.
7. Bapak Rektor Universitas Khairun Ternate Prof. DR. Husen Alting, SH., MH., Bapak Wakil Rektor II DR. Abdul Wahab Hasyim, SE.,M.Si, Bapak DR. M. Ridha Ajam, M.Hum, yang telah mendukung penulis dalam melangkah awal, selalu memberikan motivasi untuk melanjutkan studi,

pengusulan hingga pengawasan langsung bahwa bantuan beasiswa tersebut sampai kepada kami, Terima kasih Bapak

8. Untuk Suami dr. Fadhlán Ahmad terima kasih sudah mendukung dalam bentuk waktu, materi, dan perhatiannya
9. Orangtuaku Alm. Soebagio, ST.MM terima kasih Ayah sudah menjadikan Tauladan dalam mencari ilmu, sudah mengajarkan banyak hal dan juga untuk Ibu yang selama ini selalu mendukung dalam Doa-doanya setiap langkah dan proses yang penulis lalui.
10. Saudaraku Kakak Tertua Nurmegawati Qurniyah Dj. ST., Adikku Nurtria Manyarani B.J., Rahmat Legal Mustaqim Dj., yang selalu mendukung, memotivasi dan siap membantu segala keperluan penulis
11. Teman seperjuangan Alm. dr. Dian yang telah berpulang di masa studi semoga engkau bahagia disana kak, teman-teman angkatan Fisiologi 2018 I (Kak Yanti, Kak Emi, Nuni, Hary, Farah, Diah, Mindi, Rezky, Angria) yang selalu saling membantu, memotivasi, susah senang sama-sama, terima kasih banyak teman-teman.
12. Senior Konsentrasi Fisiologi Angkatan 2017, terima kasih banyak sudah selalu memotivasi dan membantu memberi informasi mengenai semuanya disaat penulis mengalami kendala dan kebingungan.
13. Teman-teman CPNS Fakultas Kedokteran Universitas Khairun (Pak Hakim dan Pak Amran) yang banyak saya reportkan dan sebagai tempat konsultasi statistik. Terima kasih

14. Para staf dan pegawai Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin, terutama Nina terima kasih banyak atas semua bantuannya yang tak dapat disebut satu persatu.

Terima kasih atas bimbingan dan bantuannya selama ini, semoga Allah SWT membalas kebaikan semuanya. Amin ya rabbal alamiin.

Makassar, Agustus 2020

Penulis

DAFTAR ISI

Sampul Dalam	i
Lembar Pengajuan.....	ii
Lembar Pengesahan.....	iii
Lembar Pernyataan Keaslian.....	iv
Prakata	v
Daftar Isi	x
Daftar Tabel	xiii
Daftar Gambar	xiv
Daftar Singkatan	xv
ABSTRAK	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian.....	5
D. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	7
A. Tinjauan Umum Obesitas.....	7
B. Tinjauan Umum Diet Tinggi Protein, Rendah Karbohidrat, dan Rendah Lemak.....	7
C. Tinjauan Umum Fungsi Ginjal	12
1. Mikroalbuminuria (MAU).....	15

2. Histologi Ginjal.....	15
D. Tinjauan Umum Fungsi Hati.....	17
1. Alanin aminotransferase (ALT).....	18
2. Aspartat aminotransferase (AST).....	19
3. Alkaline phosphatase (ALP).....	19
4. Histologi Hati.....	20
E. Tinjauan Umum Hewan Percobaan.....	23
F. Kerangka Teori.....	27
G. Kerangka Konsep.....	28
H. Hipotesis Penelitian.....	28
I. Definisi Operasional.....	29
BAB III METODE PENELITIAN.....	30
A. Rancangan Penelitian.....	30
B. Variabel Penelitian.....	31
C. Waktu dan Lokasi Penelitian.....	32
D. Bahan dan Alat.....	32
E. Populasi dan Sampel.....	33
F. Prosedur Perlakuan.....	35
G. Izin Penelitian dan Kelayakan Etik.....	38
H. Teknik Analisis.....	39
I. Alur Penelitian.....	41
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....	42
A. Hasil Penelitian.....	42

B. Pembahasan	52
BAB V PENUTUP	60
A. Kesimpulan	60
B. Saran.....	61
DAFTAR PUSTAKA.....	62

DAFTAR TABEL

Nomor	halaman
1. Modifikasi skoring tingkat kerusakan glomerulus ginjal	16
2. Modifikasi skoring tingkat kerusakan tubulus ginjal	17
3. Parameter skoring evaluasi hati di sekitar vena sentralis	22
4. Nilai klinis pada tikus	25
5. Parameter normal pada urin tikus.....	26
6. Perbandingan umur tikus dan manusia	26
7. Definisi operasional	29
8. Besar sampel penelitian	34
9. Data kandungan zat gizi makronutrien pakan hewan coba	43
10. Data perubahan rata-rata berat badan tikus <i>Wistar</i>	45
11. Efek diet TPRKRL pada fungsi ginjal tikus <i>Wistar</i> jantan	46
12. Deskripsi histologi ginjal (glomerulus) tikus <i>Wistar</i> jantan	47
13. Deskripsi histologi ginjal (tubulus) tikus <i>Wistar</i> jantan	48
14. Efek diet TPRKRL pada fungsi hati tikus <i>Wistar</i> jantan	50
15. Deskripsi histologi hati tikus <i>Wistar</i> jantan.....	51
16. Deskripsi histologi hati tikus <i>Wistar</i> jantan.....	53

DAFTAR GAMBAR

Nomor	halaman
1. Histologi glomerulus dan tubulus normal pada tikus.....	16
2. Perbandingan histologi hati pada tikus dan manusia.....	21
3. Hati tikus normal pembesaran 400x	22
4. Tikus <i>Rattus norvegicus</i> galur <i>Wistar</i>	23
5. Skema desain penelitian	30
6. Alur Penelitian	43
7. Grafik rerata berat badan tikus <i>Wistar</i> per minggu	44
8. Grafik rerata selisih berat badan tikus <i>Wistar</i> per minggu	44
9. Penampakan histologi sediaan Ginjal (glomerulus) dengan pewarnaan HE.....	48
10. Penampakan histologi sediaan Ginjal (tubulus) dengan pewarnaan HE	49
11. Penampakan histologi sediaan hati tikus kontrol (diet standar)...	52
12. Penampakan histologi sediaan hati tikus diet TPRKRL dengan pewarnaan HE.....	52

DAFTAR ARTI LAMBANG DAN SINGKATAN

Lambang/Singkatan	Arti dan Keterangan
α	Alpha
AA	Asam amino
AD2	Sebutan untuk salah satu jenis pakan hewan
ADH	Anti-diuretik hormon
ALP	Alkaline phosphatase
ALT	Alanin aminotransferase
AST	Aspartat aminotransferase
FFA	Free Fatty Acid (asam lemak bebas)
MSH	Melanocyte stimulating hormone
BMI	Indeks massa tubuh
cm	Sentimeter (satuan panjang)
CO ₂	Karbondioksida
CoA	Asetil koenzim A
et al.	et alii, dan kawan-kawan
g	Gram (satuan berat)
GFR	Glomerulus filtration rate
GGT	Gamma GlutamylTransferase
IL-6	Interleukin 6
kg	Kilogram (satuan berat)
m	Meter (satuan panjang)

MAU	Mikroalbuminuria
mm	Milimeter
NAD ⁺	Nikotinamida Adenosin Dinukleotida
NADH	Sebutan bagi molekul NAD ⁺ yang tereduksi dengan penambahan 1 atom hidrogen
NPN	Non-protein Nitrogen Compound
NPY	Neuropeptide Y
PGK	Penyakit ginjal kronik
RDA	Recommended dietary allowance
ROS	Reactive oxygen species
SSP	Sistem saraf pusat
TPRKRL	Tinggi protein, rendah karbohidrat, dan rendah lemak
TKE	Total konsumsi energi
TNF	Tumor nekrosis faktor
U/L	Unit/Liter

ABSTRAK

Pola diet yang cukup populer merekomendasikan diet tinggi protein, rendah karbohidrat sebagai strategi menurunkan berat badan pada pasien obesitas sebab dapat mengurangi nafsu makan dan asupan kalori. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak (TPRKRL) jangka panjang terhadap fungsi ginjal dan hati. Penelitian ini menggunakan hewan coba 22 ekor tikus *Rattus norvegicus* galur *Wistar* jantan yang dibagi menjadi dua kelompok yakni kelompok pakan standar (n=9) dan pakan TPRKRL (n=13) dan perlakuan diberikan selama 8 minggu kemudian dilakukan pemeriksaan penanda biokimia plasma, urin maupun histologi. Hasil penelitian menunjukkan diet TPRKRL tidak memberikan perbedaan signifikan secara statistik terhadap angka kejadian MAU ($p=0.240$, *Mann-Whitney T-test*) dan histologi ginjal ($p=0.308$, *Fisher's Exact Test*). Namun terdapat perubahan histologi berupa pembesaran glomerulus, penyempitan ruang kapsuler dan degenerasi hidropik pada tubulus ginjal yang lebih luas pada kelompok TPRKRL. Pada pemeriksaan fungsi hati ditemukan perbedaan signifikan pada ALP ($p=0.018$, *Mann-Whitney T-test*), namun pada enzim transaminase ALT dan AST tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p=0.171$ dan $p=0.066$, *Mann-Whitney T-test*) meskipun mayoritas terdapat peningkatan yang lebih tinggi pada kelompok TPRKRL dibanding kelompok kontrol dan pada histologi hati didapatkan perbedaan yang signifikan ($p=0.005$, *Fisher's Exact Test*) berupa degenerasi hidropik dengan pelebaran sinusoid. Hal ini mengindikasikan telah terjadi cedera sel ginjal dan hati yang masih dini atau mekanisme adaptasi terhadap perubahan komposisi diet yang diberikan.

Kata kunci: Tinggi Protein, Fungsi Ginjal, Histologi Ginjal, Fungsi Hati, Histologi Hati

ABSTRACT

*A fairly popular diet recommends a high protein, low carbohydrate diet as a weight loss strategy in obese patients because it reduces appetite and calorie intake. The purpose of this study was to determine the effect of a long-term high protein, low carbohydrate and low fat (HPLCLF) diet on kidney and liver function. This study used 22 experimental animals of male Wistar strain *Rattus norvegicus* divided into two groups, namely the standard feed (n=9) and the HPLCLF feed (n=13) and the treatment was given for 8 weeks and then examined the biochemical markers of plasma, urine and histology. The results showed that the HPLCLF diet did not provide statistically significant differences in the incidence of MAU ($p=0.240$, Mann-Whitney T-test) and renal histology ($p=0.308$, Fisher's Exact Test). However, there were histological changes in the form of glomerular enlargement, narrowing of the capsular space and hydropic degeneration of the kidney tubules more widely in the HPLCLF group. On liver function examination, there was a significant difference in ALP ($p=0.018$, Mann-Whitney T-test), but the transaminase enzymes ALT and AST did not show a significant difference ($p=0.171$ and $p=0.066$, Mann-Whitney T-test), although the majority there was a higher increase in the HPLCLF group than in the control group and in the liver histology there was a significant difference ($p=0.005$, Fisher's Exact Test) in the form of hydropic degeneration with sinusoid dilation. This indicates that there has been early kidney and liver cell injury or an adaptation mechanism to changes in the composition of a given diet.*

Keywords: *High Protein, Kidney Function, Kidney Histology, Liver Function, Liver Histology*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Negara maju obesitas merupakan masalah kesehatan yang dianggap sebagai patologi nutrisi paling umum. Obesitas terjadi karena asupan nutrisi yang berlebihan dan atau penurunan pengeluaran energi (Hernandez Bautista *et al.*, 2019). Penyebabnya dapat berupa kelainan genetik dan kondisi endokrin yang dipengaruhi faktor lingkungan seperti stres, diet, pola kerja yang menetap dan lingkungan obesigenik (Huntari, Irfannuddin and Murti, 2018). Obesitas dikaitkan dengan peningkatan risiko untuk penyakit kardiovaskuler, dislipidemia, hipertensi, diabetes dan sindrom metabolik (Antonio, Lorenzo and A, 2011).

Prevalensi penduduk dewasa di Indonesia dengan berat badan lebih sebesar 13,5% dan obesitas 15,4%. Obesitas sentral yang dianggap sebagai faktor risiko beberapa penyakit kronis, untuk laki-laki dengan LP >90 cm atau perempuan dengan LP >80 cm. Prevalensi obesitas sentral nasional sebesar 26,6%, lebih tinggi dari tahun 2007 (18,8%) (Depkes, 2013), sedangkan data prevalensi obesitas di Amerika Serikat tahun 2016 sekitar 39,8% pada orang dewasa yang berusia 40-59 tahun dan 18,5% terjadi pada dewasa muda yang berusia 20-39 tahun (Huntari, Irfannuddin and Murti, 2018).

Pola diet yang populer di media awam merekomendasikan diet tinggi protein untuk menurunkan berat badan terutama pada pasien obesitas. Diet tinggi protein menjadi semakin populer dimana diet ini dapat memberikan efek ganda yakni rasa kenyang dan menurunkan berat badan (Pesta and Samuel, 2014). Diet tinggi protein dapat meningkatkan kinerja fisik, komposisi tubuh, dan kesehatan yang lebih baik lagi (Aparicio *et al.*, 2013; Kamper and Strandgaard, 2017).

Dampak diet tinggi protein sejauh ini masih dalam perdebatan. Terdapat penelitian yang memaparkan diet tinggi protein dapat menyebabkan nefrotoksisitas (Chen *et al.*, 2016), meningkatkan risiko hiperfiltrasi ginjal dan penurunan fungsi ginjal yang cepat pada populasi umum (Jhee *et al.*, 2019). Asupan protein yang tinggi dapat menyebabkan peningkatan tekanan intraglomerular dan hiperfiltrasi glomerulus (Juraschek *et al.*, 2013). Peningkatan tekanan glomerulus menyebabkan kerusakan pada struktur glomerulus yang menyebabkan atau memperburuk penyakit ginjal kronik (PGK) (Jee Ko *et al.*, 2017).

Penelitian yang dilakukan pada atlet di Amerika Serikat mengatakan bahwa kebutuhan protein 2,3-3,4 g/kg/hari masih dianggap aman dan tidak memiliki efek pada profil lipid atau penanda fungsi ginjal dan hati. Uji coba ini juga tidak menunjukkan efek berbahaya (Antonio *et al.*, 2015, 2016), hal ini didukung oleh studi kohort populasi pada orang dewasa di Utara Swedia mengatakan bahwa tidak ada hubungan yang jelas antara diet tinggi

protein-rendah karbohidrat dengan angka kematian akibat penyakit kardiovaskuler dan kanker (Nilsson *et al.*, 2012).

Penerapan diet tinggi protein berdampak pada penurunan porsi makronutrien yang lainnya yaitu karbohidrat dan lemak. Pada diet rendah karbohidrat dengan asupan protein yang lebih tinggi, memberikan keprihatinan tentang dampaknya terhadap fungsi ginjal. Permasalahan mendasar adalah tidak tersedia data yang mengaitkan perihal tinggi protein dengan memburuknya fungsi ginjal pada mereka yang memiliki ginjal normal (Oh and Uppaluri, 2019). Didapatkan pula hasil penelitian yang dilakukan secara meta-analisis pada pasien diabetes tipe 2 dikatakan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan pada penanda fungsi ginjal (GFR, Ureum, kreatinin, albumin urin, asam urat) baik yang diberikan diet rendah karbohidrat maupun diet kontrol (Suyoto, 2018), sedangkan penelitian pada individu yang kelebihan berat badan dan obesitas tanpa CKD didapatkan peningkatan GFR yang lebih besar pada diet rendah karbohidrat dibandingkan dengan diet kontrol (Oyabu *et al.*, 2016).

Studi ini bertujuan untuk menganalisis efek penggabungan dari pemberian diet dengan komposisi tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak (TPRKRL) terhadap fungsi ginjal dan hati. Pada penelitian ini peneliti akan menggunakan diet dengan komposisi tinggi protein ($\geq 70\%$), rendah karbohidrat ($\leq 10\%$) dan rendah lemak (10-20%) dimana komposisi tinggi protein merupakan komposisi yang baru digunakan dalam penelitian serupa.

Penelitian ini menggunakan hewan coba tikus *Rattus norvegicus* galur *Wistar* jantan yang akan dianalisis efek ke ginjal dengan parameter yakni urin (mikroalbuminuria/MAU) dan histopatologi ginjal, sedangkan efek ke hati yang akan dianalisis adalah plasma (alanin aminotransferase /ALT, Aspartat aminotransferase /AST, dan alkaline phosphatase /ALP) dan histopatologi hati hewan coba.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas maka rumusan masalah pada penelitian adalah:

1. Bagaimanakah efek pemberian diet standard dan diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak selama 8 minggu terhadap fungsi ginjal dengan pemeriksaan kadar MAU dan gambaran histologi ginjal pada tikus galur *Wistar* jantan?
2. Bagaimanakah efek pemberian diet standard dan diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak selama 8 minggu terhadap fungsi hati dengan pemeriksaan kadar serum ALT, AST, ALP dan gambaran histologi hati pada tikus galur *Wistar* jantan?

C. Tujuan Penelitian

1. Tujuan Umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek pemberian diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak dalam waktu jangka panjang terhadap fungsi ginjal dan fungsi hati pada tikus galur *Wistar* jantan

2. Tujuan Khusus

- a. Mengetahui efek pemberian diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak selama 8 minggu terhadap fungsi ginjal dengan pemeriksaan kadar MAU pada tikus galur *Wistar* jantan
- b. Mengetahui efek pemberian diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak selama 8 minggu terhadap fungsi ginjal dengan pemeriksaan histologi ginjal pada tikus galur *Wistar* jantan
- c. Mengetahui efek pemberian diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak selama 8 minggu terhadap fungsi hati dengan pemeriksaan kadar serum ALT, AST, dan ALP pada tikus galur *Wistar* jantan
- d. Mengetahui efek pemberian diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak selama 8 minggu terhadap fungsi hati dengan pemeriksaan histologi hati pada tikus galur *Wistar* jantan

D. Manfaat Penelitian

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan manfaat antara lain:

1. Manfaat pengembangan ilmu
 - a. Dapat memberikan informasi ilmiah mengenai efek pemberian diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak dalam jangka panjang terhadap fungsi ginjal melalui pemeriksaan kadar MAU dan histologi ginjal pada tikus
 - b. Dapat memberikan informasi ilmiah mengenai efek pemberian diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak dalam jangka panjang terhadap fungsi hati melalui pemeriksaan kadar serum ALT, AST, ALP dan histologi hati pada tikus
 - c. Dapat menambah informasi ilmiah mengenai efek pemberian diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak terhadap perubahan fisiologis tubuh baik manfaat atau risikonya.

2. Manfaat Aplikatif

Dapat memberikan informasi pilihan jenis diet dan kewaspadaan kepada masyarakat dalam menurunkan berat badan dengan menggunakan jenis diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Diet Tinggi Protein, Rendah Karbohidrat, dan Rendah Lemak

Dari berbagai jenis pola diet diantaranya diet rendah karbohidrat (Oh and Uppaluri, 2019), diet rendah lemak (Tobias *et al.*, 2015), diet tinggi lemak atau ketogenik (Arsyad *et al.*, 2020) dll, muncul salah satu pola diet yang cukup populer yakni diet tinggi protein yang dipromosikan dapat meningkatkan kinerja fisik, komposisi tubuh, dan kesehatan yang lebih baik (Aparicio *et al.*, 2013; Kamper and Strandgaard, 2017). Diet ini populer karena dapat meningkatkan rasa kenyang (Pesta and Samuel, 2014), mengurangi nafsu makan, asupan energi, berat badan, dan penumpukan lemak (Aparicio *et al.*, 2013). Namun data manfaat dan kerugian dari jenis diet ini masih tidak konsisten (Aparicio *et al.*, 2011; Schwingshackl and Hoffmann, 2014).

Protein berasal dari kata Yunani yaitu proteos yang bermakna utama atau yang didahulukan. Protein adalah kumpulan asam amino dengan ikatan peptida. Protein merupakan zat paling penting di setiap organisme, yang membentuk otot, enzim, protein plasma, antibodi, hormon dan protein fibrosa (Suprayitno and Sulistiyati, 2017).

Kebutuhan metabolik untuk asam amino (AA) pada dasarnya untuk mempertahankan simpanan protein jaringan endogen. Untuk kebutuhan fisiologis, pasokan AA berasal dari tiga sumber yaitu 1) protein eksogen

yang melepaskan asam amino setelah dicerna dan diserap; 2) pemecahan protein jaringan; 3) sintesis *de Novo*, termasuk asam amino (serta amonia) yang berasal dari proses penyerapan kembali urea, melalui metabolisme hidrolisis dan mikroflora usus (Schutz, 2011).

Bila asupan protein berlebih, kelebihan asam amino akan melalui tiga proses yaitu 1) peningkatan oksidasi, dengan produk akhir seperti karbondioksida (CO_2) dan amonia; 2) Peningkatan ureagenesis yaitu sintesis urea terkait dengan oksidasi protein; 3) glukoneogenesis, yaitu sintesis glukosa. Sebagian besar kelompok amino dari kelebihan asam amino dikonversi menjadi urea melalui siklus urea, sedangkan kerangka karbon berubah menjadi glukosa (Schutz, 2011).

Setelah makanan dicerna, tubuh akan mengalami peningkatan laju metabolisme dimana energi dan reaksi kimia diperlukan untuk mencerna, menyerap, dan menyimpan makanan tersebut. Proses ini dinamakan efek termogenik karena membutuhkan energi dan menghasilkan panas. Efek termogenik protein lebih tinggi yakni 8 persen dibanding karbohidrat atau lemak yang hanya 4 persen, dan dalam waktu satu jam dapat meningkat hingga 30 persen dan bertahan selama 3-12 jam (Hall, 2016).

Rerata kecukupan energi dan protein bagi penduduk Indonesia sebesar 2.150 kilo kalori dan 57 gram per orang per hari dengan anjuran proporsi protein hewani 25% (Kemenkes RI, 2016). Kisaran persentase konsumsi protein yang dapat ditoleransi untuk orang dewasa berdasarkan pedoman diet saat ini adalah 10 - 35 % dari asupan kalori harian, adapun

untuk karbohidrat, adalah sebesar 45 - 65%, sedangkan untuk lemak adalah sebesar 20 - 35% (Institute of Medicine, 2002). Definisi diet tinggi protein adalah asupan protein yang melebihi standar rekomendasi protein menurut RDA yakni 0,8g/kgBB/hari dan dikatakan tinggi protein bila asupan melebihi 35% dari total kalori (Tipton, 2011).

Kebutuhan protein pada individu yang aktif secara fisik adalah 1,4-2,0 g/kgBB/hari (Antonio *et al.*, 2014), namun hal ini masih terus didiskusikan. Penelitian yang dilakukan pada para atlet baik laki-laki maupun wanita di Amerika Serikat mengatakan bahwa kebutuhan protein 2,3-3,4 g/kg/hari untuk para atlet masih dianggap aman untuk daya tahan dan latihan kekuatan (Antonio *et al.*, 2015). Adapula penelitian lanjutan yang dilakukan pada atlet laki-laki usia muda dengan pola latihan yang sama dengan mengonsumsi diet tinggi protein (2,6-3,3g/kg/hari) selama 4 bulan memaparkan bahwa diet ini tidak memiliki efek pada profil lipid atau penanda fungsi ginjal dan hati. Uji coba ini juga tidak menunjukkan efek berbahaya (Antonio *et al.*, 2016).

Laporan lain tentang manfaat dari asupan diet tinggi protein pada beberapa keadaan seperti pada orang dewasa yang berusia lanjut, orang dewasa yang ingin menurunkan berat badan atau mengatur nafsu makan dan orang dewasa yang merupakan atlet atau orang yang sangat aktif beraktivitas. Usia lanjut membutuhkan asupan tinggi protein untuk mengganti kehilangan massa otot, osteoporosis dan fungsionalitas akibat penuaan yang disebabkan faktor asupan dasar protein yang tidak memadai,

berkurangnya kemampuan untuk menggunakan protein yang tersedia (hilangnya respons anabolik normal untuk membangun protein baru), dan kebutuhan protein yang lebih besar karena penyakit. Sedangkan manfaat untuk orang dewasa lainnya seputar pada pemeliharaan massa otot untuk meningkatkan kemampuan beraktivitas sehari-hari, mengurangi risiko jatuh dan patah, pengaturan nafsu makan yang lebih baik, dan peningkatan efek termogenik dari konsumsi protein (Sithamparapillai, 2015).

Penerapan diet tinggi protein berdampak pada penurunan porsi makronutrien yang lainnya yaitu karbohidrat dan lemak. Dikatakan rendah karbohidrat apabila memiliki kandungan karbohidrat <26% (Oh and Uppaluri, 2019), adapula yang sering menggunakan <15% dari total kalori (Lagiou *et al.*, 2012) dan diet rendah lemak bila memiliki kandungan lemak <30% dari total kalori (Tobias *et al.*, 2015).

Sebuah penelitian menunjukkan bahwa diet rendah karbohidrat sama efektifnya dengan diet rendah lemak dalam menurunkan berat badan dan memperbaiki faktor risiko metabolik (Hu *et al.*, 2012). Karbohidrat berperan besar dalam nutrisi sel. Insulin berperan dalam penyimpanan energi yang berasal dari karbohidrat yang akan disimpan di dalam sel dalam bentuk glikogen, dan ketika ketiadaan atau kelangkaan karbohidrat maka akan mengurangi kerja insulin dan menurunnya lipogenesis atau pembentukan lemak (Paoli *et al.*, 2013; Hall, 2016), meningkatkan fungsi kardiometabolik, dan menginduksi penurunan berat badan (Oh and Uppaluri, 2019).

Ketika menurunnya makronutrien karbohidrat dari makanan, asupan lemak dan protein umumnya meningkat untuk mengimbangi pengurangan karbohidrat. Diberitakan bahwa diet rendah karbohidrat lebih unggul dalam menurunkan berat badan yang cepat dalam 6-12 bulan pertama, hal ini didasari atas hipotesis bahwa lemak dan protein meningkatkan rasa kenyang dan menghasilkan lebih sedikit hipoglikemia secara bersamaan, sehingga mengurangi rasa lapar dan asupan makanan yang kemudian menghasilkan defisit kalori. Dalam penelitian terbaru dikatakan bahwa diet rendah karbohidrat mengalami pembakaran kalori yang lebih tinggi dibanding diet tinggi karbohidrat iso kalori. Salah satu model diet khusus rendah karbohidrat yakni diet ketogenik (Oh and Uppaluri, 2019).

Tahap awal metabolisme karbohidrat adalah pemecahan glukosa (glikolisis) menjadi piruvat. Selanjutnya piruvat dioksidasi menjadi asetil KoA dan masuk ke dalam rangkaian siklus asam sitrat untuk dikatabolik menjadi energi. Selama beraktivitas atau olahraga, glikogen pada otot yang aktif merupakan sumber energi, setelah melalui proses glikogenolisis. Bila kebutuhan meningkat, glikogen hati dikonversi menjadi glukosa dan dikeluarkan ke darah menuju otot yang aktif (Hall, 2016).

Bila jumlah glikogen hati dan otot habis atau setelah 3 – 4 hari tanpa konsumsi karbohidrat, sistem saraf pusat akan dipaksa untuk menemukan sumber energi alternatif. Sumber energi alternatif ini berasal dari produksi berlebih asetil koenzim A (CoA) yang terjadi terutama dalam matriks mitokondria di hati yaitu acetoasetat, asam b-hidroksibutirat dan aseton

yang dikenal sebagai badan keton (Paoli *et al.*, 2013; Arsyad *et al.*, 2020). Glukosa dibentuk melalui proses glukoneogenesis dari sumber energi lain seperti lemak (gliserol) dan protein (misalnya, alanin), dan laktat (berasal dari otot) (Schutz, 2011; Paoli *et al.*, 2013).

Jalur yang menghasilkan pembentukan 3-hidroksi-3-methylglutaryl-CoA dari asetil CoA juga terjadi di sitosol sel hati (Paoli *et al.*, 2013) guna produksi adenosin trifosfat. Disregulasi dari jalur ini mengakibatkan kekurangan energi dan/atau produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang mungkin bertanggung jawab untuk kerusakan sel hati (Monteiro *et al.*, 2016).

B. Tinjauan Umum Fungsi Ginjal

Ginjal terletak retroperitoneal dalam rongga abdomen dan berjumlah sepasang, dengan berat masing-masing ± 150 gram. Terdapat kurang lebih satu juta nefron yang merupakan unit fungsional ginjal di setiap ginjal (Verdiansah, 2016).

Nefron terdiri dari glomerulus, tubulus kontortus proksimal, lengkung Henle, tubulus kontortus distalis dan tubulus kolektivus. Glomerulus merupakan unit kapiler yang disusun dari tubulus membentuk kapsula Bowman (Hall, 2016).

Ginjal memiliki peran penting dalam tubuh yakni fungsi ekskresi *Non-protein Nitrogen Compound* (NPN) yang merupakan fungsi utama ginjal (Verdiansah, 2016), fungsi pengaturan keseimbangan air dan elektrolit,

fungsi pengaturan keseimbangan asam basa dan fungsi endokrin (Sherwood, 2013; Hall, 2016).

Secara fisiologis maupun patologis yang terjadi pada nefron merupakan representasi keadaan atau fungsi ginjal tersebut. Saat darah memasuki kapiler glomerulus, air dan zat terlarut (termasuk tiga zat terlarut terkait protein utama: urea, asam amino, dan amonia) disaring melalui dinding kapiler. Dalam keadaan normal, baik protein maupun sel darah tidak dapat melewati membran kapiler glomerulus selektif permeabel. Sehingga terjadi penumpukan protein yang akan menghasilkan peningkatan tekanan onkotik di kapiler glomerulus, yang kemudian meningkatkan ketahanan terhadap filtrasi glomerulus. Hal inilah yang menjadikan filtrasi glomerulus dan konsentrasi protein urin digunakan untuk mengevaluasi fungsi ginjal. Proteinuria normalnya tidak terjadi pada ginjal yang sehat dan pada tingkat tertentu hal ini menunjukkan kerusakan di tingkat kapiler glomerulus (Sithamparapillai, 2015).

Efek diet tinggi protein pada ginjal sejauh ini masih kontroversial. Penelitian pada hewan dan manusia menunjukkan konsumsi tinggi protein mempercepat PGK, meningkatkan albuminuria, diuresis, natriuresis, dan kaliuresis. Juga didukung dalam sebuah studi jangka panjang pada babi, diet tinggi protein (35% dari total konsumsi energi/TKE) menghasilkan ginjal yang membesar disertai dengan kerusakan histologis serta volume ginjal dan glomerular menjadi 60-70% lebih tinggi bila dibandingkan dengan

hewan kontrol (dengan asupan 15% dari TKE) (Schwingshackl and Hoffmann, 2014).

Hal ini bertolak belakang dengan hasil yang berbeda dengan penelitian pada individu obesitas non-diabetes selama 2 tahun melaporkan bahwa diet tinggi protein tidak terkait dengan efek berbahaya pada *Glomerulus Filtration Rate* (GFR), ekskresi albumin urin atau keseimbangan cairan dan elektrolit dibandingkan dengan diet normal protein. Namun, bukti menunjukkan bahwa obesitas itu sendiri dapat mempercepat perkembangan PGK, yang disebabkan oleh mekanisme hiperfiltrasi/hipertrofi glomerulus karena meningkatnya kebutuhan metabolisme individu yang obesitas (Schwingshackl and Hoffmann, 2014).

Adapun pemeriksaan yang dapat dilakukan untuk mengevaluasi fungsi ginjal antara lain : ureum, kreatinin (klirens kreatinin, GFR), *Cystatin C*, asam urat, $\beta 2$ *Microglobuli*, inulin, mikroalbuminuria, dan zat radioisotope lainnya (Verdiansah, 2016).

1. Mikroalbuminuria (MAU)

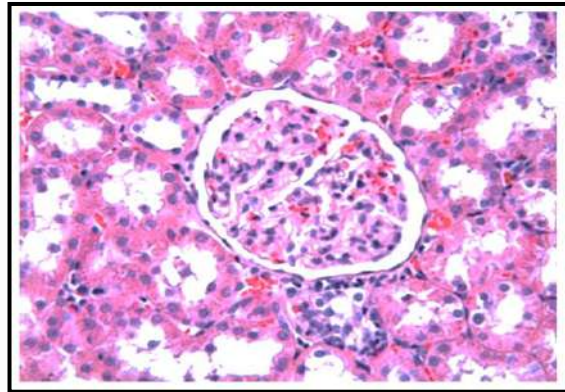
Mikroalbuminuria adalah suatu keadaan didapatkannya albumin dalam urin sebesar 30-300 mg/24 jam (Verdiansah, 2016), atau 20-199 μ g permenit bila menggunakan sampel urin dalam waktu tampung tertentu (4 jam) atau apabila menggunakan sampel urine sewaktu adalah 30 – 299 mg/g kreatinin (Halim, Kambayana and Putra, 2011). Mikroalbuminuria juga dianggap sebagai penanda disfungsi endotel ginjal (Singh and Satchell,

2011). yang dapat mempresentasikan keadaan awal dari gangguan ginjal (Verdiansah, 2016). Protein urin yang terdeteksi lebih dini mayoritas adalah albumin. Nilai standar proteinuria pada hewan tikus didapatkan berkisar 0,15-1,0 g/L (Nengsih, Djabir and Manggau, 2020).

Penelitian ini akan menggunakan pemeriksaan mikroalbuminuria dengan pengukuran semikuantitatif dipstik urinalisis dengan alasan pemeriksaan ini efektif dan efisien.

2. Histologi Ginjal

Pemeriksaan lain yang akan dilakukan yakni dengan pemeriksaan histologi untuk mengetahui perubahan struktur jaringan ginjal, yang memiliki nilai prediktif dan merupakan pemeriksaan invasif. Adanya peningkatan kolagen dan elastin pada parenkim ginjal dapat dijadikan tanda kompensasi kerja fungsi ginjal (Aristo and Danarto, 2016). Selain itu penampakan pada histologi ginjal berupa pembesaran/pembengkakan glomerulus, penyempitan ruang intra kapsuler, adanya sel eritrosit (Adleend, 2015), degenerasi hidropik, vakuolisasi, menghilangnya batas piknotik dapat mengindikasikan terjadi kerusakan sel ginjal (Djabir *et al.*, 2017).



Gambar 1. Histologi glomerulus dan tubulus normal pada tikus(Cakir *et al.*, 2017)

Table 1. Modifikasi skoring tingkat kerusakan glomerulus ginjal (Adleend, 2015)

Tingkat kerusakan	Keterangan
0	inti jelas, bentuk bulat, ukuran normal
1	Pembesaran glomerulus, penyempitan ruang kapsuler, adanya butir-butir eritrosit dimana kerusakan sel mencapai 1-25% dalam 8 lapang pandang
2	Pembesaran glomerulus, penyempitan ruang kapsuler, butir-butir eritrosit dimana kerusakan sel mencapai 26-50% dalam 8 lapang pandang
3	Pembesaran glomerulus, penyempitan ruang kapsuler, butir-butir eritrosit dimana kerusakan sel mencapai >50% dalam 8 lapang pandang

Keterangan: 0= normal, 1= ringan, 2=sedang, 3=berat

Table 2. Modifikasi Skoring Tingkat kerusakan tubulus ginjal (Adleend, 2015)

Tingkat Kerusakan	Keterangan
0	Sel tidak bengkak, inti sel bulat, lumen tubulus jelas
1	Degenerasi hidropik, lumen tubulus tidak jelas dimana kerusakan sel mencapai 1-25% dalam 8 lapang pandang
2	Degenerasi hidropik, perlemakan, lumen tubulus tidak jelas dimana kerusakan sel mencapai 26-50% dalam 8 lapang pandang
3	Degenerasi hidropik, perlemakan, lumen tubulus tidak jelas, ada sel nekrosis dimana kerusakan sel mencapai >50% dalam 8 lapang pandang

Keterangan: 0= normal, 1= ringan, 2=sedang, 3=berat

C. Tinjauan Umum Fungsi Hati

Hati adalah organ metabolik yang sangat penting dalam tubuh. Unit fungsional dasar hati adalah lobulus, struktur berbentuk silindris dengan diameter 0,8-2 mm (Hall, 2016). Hati memiliki fungsi utama untuk metabolisme, sedangkan fungsi lainnya adalah mendetoksifikasi zat sisa tubuh, hormon, obat serta senyawa asing lainnya; membentuk protein plasma; menyimpan glikogen, lemak, besi, tembaga dan vitamin; mengaktifkan vitamin D bersama ginjal; mengeluarkan bakteri dan sel darah merah yang tua; menyekresikan hormon trombopoietin; memproduksi protein fase inflamasi akut; dan mengekskresikan kolesterol dan bilirubin (Sherwood, 2013).

Karbohidrat, protein, dan lemak dimetabolisme di hati. Sehingga enzim dan hasil produk dari jalur metabolisme ini dapat digunakan sebagai penanda biokimia fungsi dan atau cedera pada hati. Beberapa penanda

biokimia yang mewakili cedera hati (mis. Aminotransferase (ALT& AST), alkaline phosphatase (ALP), γ -glutamyl transferase (GGT), lactate dehydrogenase (LDH) and glutamate dehydrogenase (GLDH)), penanda fungsi (mis. waktu protrombin, bilirubin, albumin), serologi virus hepatitis, dan penanda proliferasi (mis. α -fetoprotein) (Gowda *et al.*, 2009; R and McGill, 2016).

1. Alanin aminotransferase (ALT)

ALT adalah enzim katalisator yang mengubah gugus amino dari asam amino menjadi α -ketoglutarat yang murni berada di sitoplasma. Terdapat paling banyak di hati, sebagian lainnya ditemukan di ginjal, jantung, dan otot. ALT meningkat terutama disebabkan kerusakan sel hati dan/atau sel otot rangka. Nilai normal serum ALT adalah 7-56 U/L (Gowda *et al.*, 2009; R and McGill, 2016). Adapun penelitian yang mengatakan ALT lebih sensitif dan spesifik dalam menilai integritas dan fungsi sel hati dengan rentan normal berkisar 43,9-83,2 dengan rata-rata $64,24 \pm 6,01$ U/L (Djabir *et al.*, 2017).

Fungsi ALT yang juga penting adalah perannya dalam siklus alanin-glukosa yang terlibat dalam proses glukoneogenesis. Di otot, ALT mengkonversi piruvat untuk asam amino alanin dengan menggunakan kelompok amino dari glutamat. Alanin memasuki sirkulasi dan diambil oleh hati, di mana ALT di hepatosit dapat mengubahnya kembali ke piruvat yang dapat digunakan untuk membuat glukosa (R and McGill, 2016).

2. Aspartat aminotransferase (AST)

Sama halnya ALT, AST adalah enzim katalisator yang mengubah gugus amino dari asam amino menjadi α -ketoglutarat, namun AST ada dua bentuk isoenzim yang berbeda yaitu bentuk mitokondria dan sitoplasmik. Di jantung isomer AST lebih banyak dibandingkan dengan jaringan lain seperti hati, otot lurik dan ginjal. Peningkatan AST mitokondria terlihat pada infark miokard dan juga pada penyakit hati kronis seperti degenerasi dan nekrosis jaringan hati. Maka dari itu AST dianggap juga sebagai penanda kerusakan hati (Gowda *et al.*, 2009; Monteiro *et al.*, 2016). Namun, peningkatan AST harus dikritisi bila mana terjadi kerusakan yang sama di jantung. Rentan nilai normal AST pada tikus didapatkan berkisar 53,8-140,1 dengan rata-rata $111,0 \pm 14,44$ U/L (Djabir *et al.*, 2017).

Diduga fungsi fisiologis yang paling penting dari AST adalah memelihara rasio NAD^+/NADH dalam sel. AST adalah indikator kritis pada transpor Malate-Aspartat, yang mengoksidasi NADH dalam sitosol dan mengurangi NAD^+ dalam matriks mitokondria untuk memfasilitasi glikolisis dan transportasi elektron yang bermakna dalam proses metabolisme (R and McGill, 2016).

3. Alkaline phosphatase (ALP)

Alkaline phosphatase merupakan turunan zink metaloenzim yang melepaskan fosfat anorganik di hampir semua jaringan. Enzim ini berasal terutama dari tulang, hati dan plasenta. Di hati, ALP ditemukan secara histokimia dalam mikrovili dari kanakuli bilier, permukaan sinusoidal dari

hepatosit dan usus halus. Nilai rata-rata alkali fosfatase bervariasi sesuai usia, jenis kelamin, berat badan dan tinggi badan. ALP pada manusia memiliki nilai normal 30 - 130 U/L. Meningkat pada masa kanak-kanak dan remaja karena tulang mereka masih berkembang, menurun di usia pertengahan dan naik lagi di usia tua. Lebih tinggi pada laki-laki dan meningkat seiring penambahan berat badan dan berbanding terbalik dengan tinggi badan seseorang (Thapa and Walia Anuj, 2007; Kementerian Kesehatan RI, 2011). Data kadar ALP yang dilakukan pengukuran pada 692 ekor tikus Sprague Dawley yang berusia 10-20 minggu didapatkan nilai rata-rata ALP yaitu $395,5 \pm 162,3$ IU/L (Matsuzawa, Nomura and Unno, 1993).

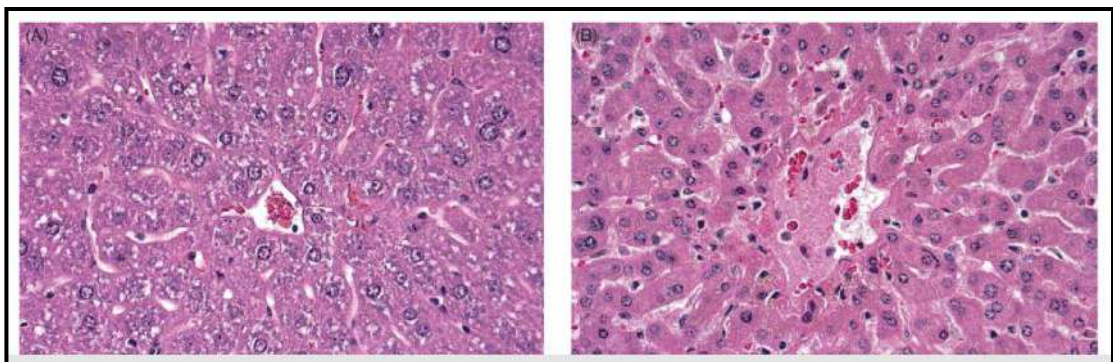
Peningkatan kadar ALP terjadi karena faktor hati dan non-hati. Peningkatan ALP dikarenakan faktor hati terjadi pada kondisi : obstruksi saluran empedu, kolangitis, sirosis, hepatitis, hepatitis metastase, kolestasis, penyakit infiltrasi hati. Untuk faktor non-hati terjadi pada kondisi : kehamilan, pertumbuhan tulang, penyakit tulang, penyakit ginjal kronik, limfoma, beberapa malignansi, penyakit inflamasi/infeksi, penyakit jantung kongestif dan hiperfosfatemia. Penurunan kadar ALP dapat terjadi pada hipofosfatemia, malnutrisi dan hipotiroidisme (Kementerian Kesehatan RI, 2011).

4. Histologi Hati

Tikus memiliki empat lobus hati yaitu lobus kiri, lobus median, lobus kanan, dan lobus caudatus. Beberapa ligamentum yang merupakan

peritoneum membantu menyokong hati. Sel–sel yang terdapat di hati antara lain: hepatosit, sel endotel, dan sel *kupffer* nama lain dari sel makrofag, dan sel *ito* (sel penimbun lemak). Sel hepatosit berjejer membentuk lapisan menyerupai susunan bata yang beranastomosa seperti labirin. Jalur diantar lapisan ini diisi oleh kapiler yang disebut sinusoid hati (Susanti, 2015)

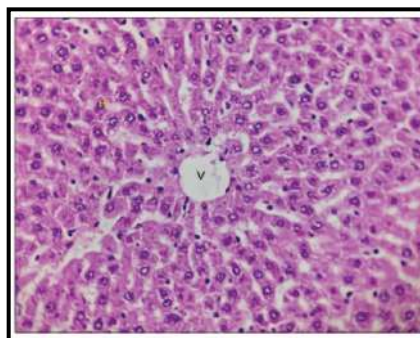
Kerusakan sel hati ditandai dengan adanya degenerasi sel (perubahan bentuk sel) sebelum terjadi kematian sel atau nekrosis. Kerusakan pada sel hati pada gambaran histologi dapat berupa degenerasi hidropik hepatosit yang ditandai adanya vakuola-vakuola yang berisi zat yang menyerupai cairan dalam sel dan degenerasi ini bersifat *reversible* (Susanti, 2015), infiltrasi sel-sel inflamasi, kongesti, dan nekrotik dapat pula tampak (Djabir *et al.*, 2020).



Gambar 2. Perbandingan histologi hati pada tikus dan manusia. Daerah sentrilobular. (A,kiri) Hepatosit tikus daerah sentrilobular sering menunjukkan pola pewarnaan yang tajam yang tidak sejelas pada manusia. (B, kanan) Hepatosit sentrilobular di hati manusia berkumpul ke arah vena sentral(Treuting *et al.*, 2012)

Nekrotik sel merupakan gambaran fase kronik. Hal ini berkaitan dengan perubahan inti sel. Perubahan ini dapat berupa piknosis, karyoreksis dan keryolisis. Penampakan piknosis: nukleus sel menyusut

dan tampak adanya “awan gelap” ini sebabkan adanya pepadatan kromatin. Karyoreksi : adanya penghancuran nukleus dengan meninggalkan fragmen terbesar didalam inti. Sedangkan saat karyolisis nukleus menghilang (lisis) sehingga pengamatan tampak sebagai sel kosong (Susanti, 2015).



Gambar 3. Hati tikus normal pembesaran 400x. Terlihat gambaran vena sentralis (V), hepatosit (H), dan sinusoid normal dengan pewarnaan HE (Shrestha *et al.*, 2018).

Tabel 3. Parameter skoring evaluasi hati di sekitar vena sentralis (Fitmawati, Titrawani and Safitri, 2018)

Nilai skor	Keterangan
0	Hati mengalami degenerasi hidropik, degenerasi Parenkim dan apoptosis di sekitar Sentrolobuler (vena sentralis) kerusakan sel mencapai 1-25% dalam 5 lapang pandang
1	Hati Mengalami degenerasi hidropik, degenerasi Parenkim dan apoptosis yang meluas hingga ke daerah tengah (midzona) kerusakan sel mencapai 26-50% dalam 5 lapang pandang
2	Hati Mengalami degenerasi hidropik, degenerasi Parenkim dan apoptosis yang meluas hingga ke periporta (perilobuler) kerusakan sel mencapai 51-75% dalam 5 lapang pandang
3	Hati Mengalami degenerasi hidropik, degenerasi Parenkim dan apoptosis yang meluas hingga ke zona Periporta (Perilobuler) kerusakan sel mencapai >75% dalam 5 lapang pandang

Keterangan: 0=Normal, 1=Ringan, 2= Sedang, 3=Berat

D. Tinjauan Umum Hewan Percobaan

Klasifikasi

Kingdom : Animalia

Filum : Chordata

Kelas : Mamalia

Ordo : Rodentia

Subordo : Odontoceti

Familia : Muridae

Genus : Rattus

Species : Rattus norvegicus



Gambar 4. Tikus *Rattus norvegicus* galur *Wistar* (Estina, 2010)

Tikus mulai berkembang sebagai hewan uji terstandarisasi dan komersil di AS sejak 1910. Melalui Institusi Wistar, pembiakan tikus selektif (*Rattus norvegicus*) dan tikus murni (*Mus musculus*) dilakukan. Para ilmuwan mulai mengkoordinasikan data klinis manusia dan menerapkan pada hewan coba ini karena kemiripannya dengan manusia (Logan, 2019).

Terdapat beberapa galur tikus *Rattus norvegicus* yang memiliki karakteristik tertentu, yakni galur *Sprague Dawley* yang merupakan albino putih, memiliki kepala kecil dan ekor lebih panjang dari badannya; galur *Wistar* ditandai dengan kepala besar dan ekor yang lebih pendek; dan galur *Long Evens* yang lebih kecil dari tikus putih dan memiliki warna hitam di kepala dan tubuh bagian depan (Susanti, 2015).

Tikus galur *Wistar* merupakan konsep hibrida teknologi organik pertama yang disebut sebagai hewan standar. Dikarenakan tikus galur *Wistar* dapat berinteraksi pada perumahan, makanan, dan teknologi yang terstandarisasi untuk memastikan ketelitian dalam penelitian perkembangan otak di laboratorium yang dikelola secara ilmiah. Tikus ini populer dalam penelitian bidang kedokteran dan biomedika secara luas (Logan, 2019). Adapun nilai normal beberapa pemeriksaan yang sering digunakan untuk menjadi parameter penelitian (tabel 5 dan 6).

Tikus sebagai hewan omnivora (pemakan segala) makanan yang dapat dimakan oleh manusia (Logan, 2019). Kebutuhan pakan seekor tikus sebanyak 10% dari bobot tubuhnya per hari, jika berupa pakan kering. Bisa ditingkatkan sampai 15% dari bobot tubuhnya jika berupa pakan basah. Kebutuhan minum setiap hari kira-kira 15-30 ml air, dapat berkurang jika pakan yang dikonsumsi sudah mengandung banyak air (Susanti, 2015).

Tabel 4. Nilai klinis pada tikus (Suckow, Danneman and Brayton, 2001)

Item Analisa	Nilai Rata-rata Yang Dilaporkan	Kebenaran dan atau Sitem Organ
Glukosa	106-278 mg/dl	Pankreas (diabetes)
Urea Nitrogen (BUN)	19-34 mg/dl	Ginjal
Kreatinin	0,5-0,8 mg/dl	Ginjal
Sodium	147-167 meq/dl	Elektrolit/Keseimbangan cairan
Potasium	5-9 meq/dl	Elektrolit/Keseimbangan cairan
Klorida	104-120 meq/dl	Elektrolit/Keseimbangan cairan
Kalsium	9-12 mg/dl	Tiroid/paratiroid, usus, pankreas, ginjal, metastasis tulang
Phosphorus	6-13 mg/dl	Ginjal
Fe	210-474 mg/dl	Transpor dan penyimpanan Fe
Alanin aminotransferase (ALT/SGPT)	26-120 IU/L	Hati
Aspartate aminotransferase (AST/SGOT)	69-191 IU/L	Hati, jantung, otot skeletal
Alkaline phosphatase (ALP)	44-118 IU/L	Hati, saluran pencernaan, ginjal, tulang
Lactic dehydrogenase (LDH)	26.8-34.4 mu/ml	Hati, jantung, otot skeletal, infeksi virus yang menurunkan LDH
Sorbitol dehydrogenase (SDH)	27-37 IU/L	Hati
Kreatinin kinase	2,5-3,7 IU/L	Jantung dan otot skeletal, distrofi otot
Total protein	43-64 g/L	Fungsi hati, status imunoglobulin
Albumin	20-47 g/L	Fungsi hati
Cholesterol	63-174 mg/dl	Hati
Trigliserida	71-164 mg/dl	Penyakit kardiovaskuler

Umumnya level kreatinin >0,7 mg/dl pada tikus yang berusia diatas 1 tahun

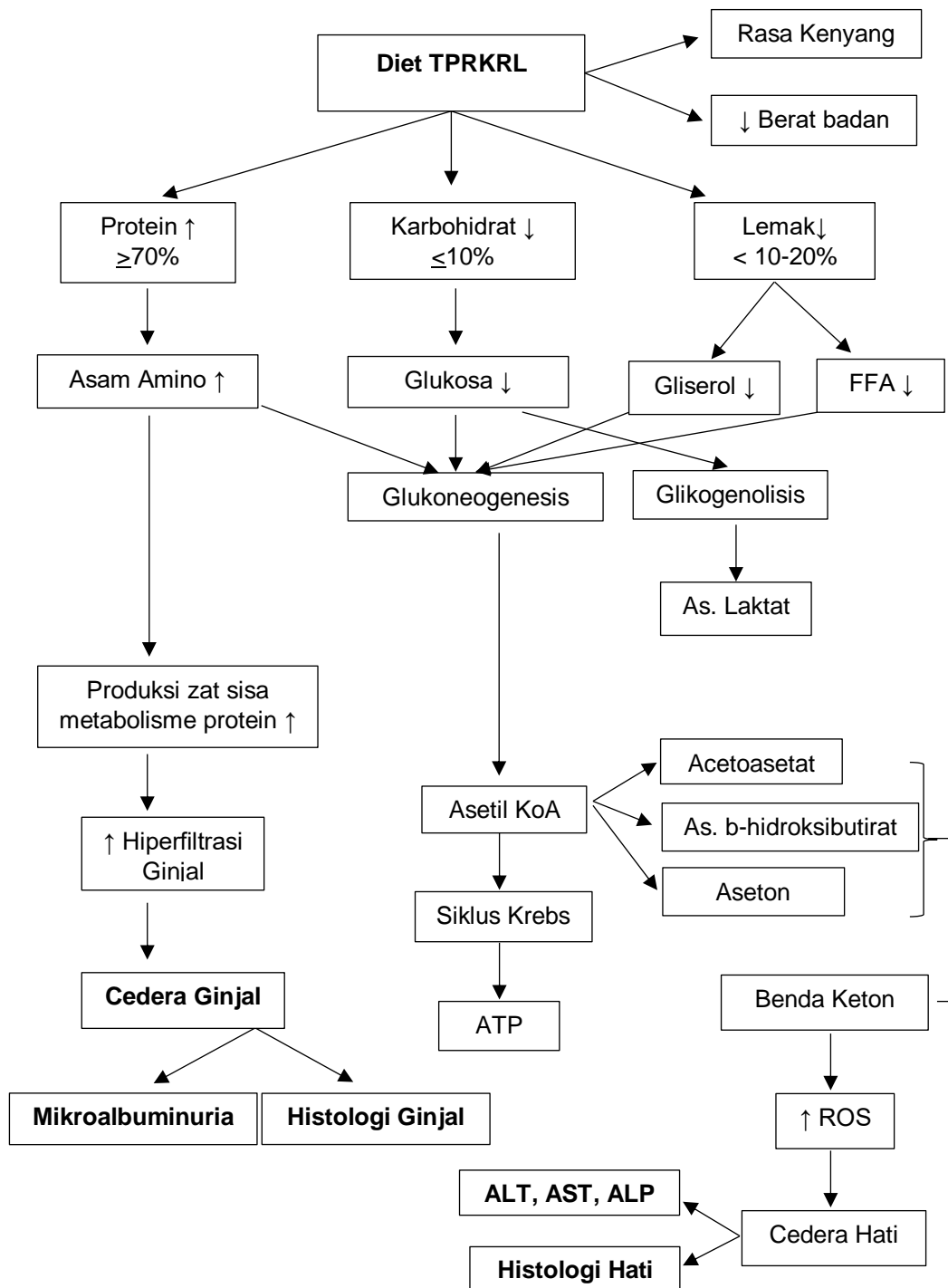
Tabel 5. Parameter normal pada urin tikus (Suckow, Danneman and Brayton, 2001)

Parameter	Perkiraan Nilai Normal
Warna	Jernih atau kekuningan-kuningan
Volume	0,5-2,5 ml/24 jam
Berat Jenis	1,030
pH	5,0
Glukosa	0,5-3,0 mg/24 jam
Protein	0,6-2,6 mg/24 jam

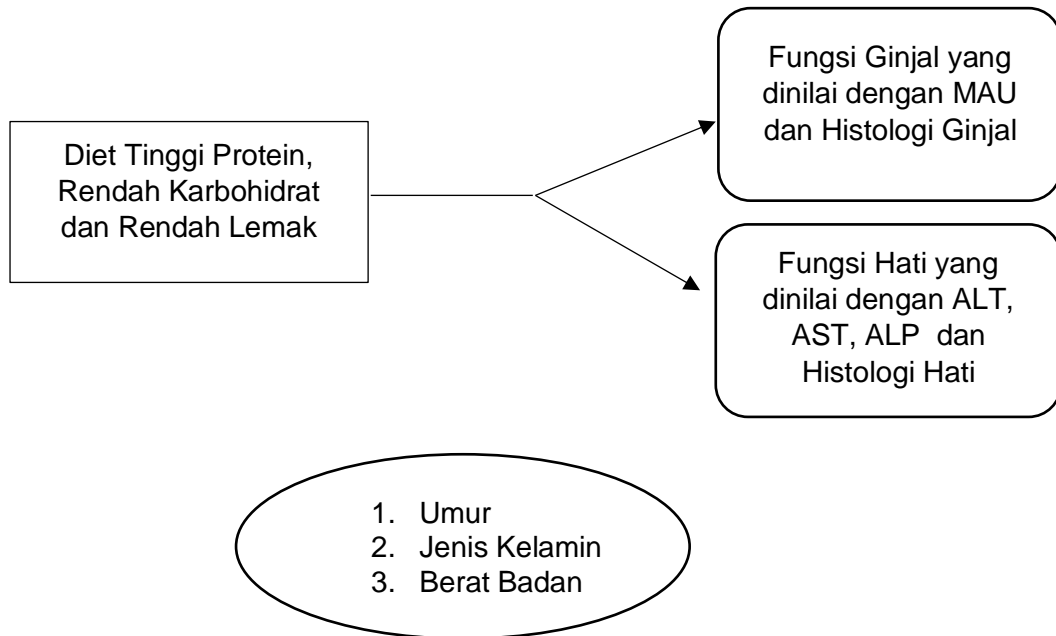
Tabel 6. Perbandingan umur tikus dan manusia (Sengupta, 2013)

Periode	Usia tikus	Usia manusia
Sepanjang hidup	13,2 hari	= 1 tahun
Masa penyapihan	42,4 hari	
Masa prepubertas	3,3 hari	
Masa remaja	10,5 hari	
Dewasa	11,8 hari	
Menua	17,1 hari	
Rerata	16,4 hari	




E. Kerangka Teori



F. Kerangka Konsep



Keterangan:

-  : Variabel Independen
-  : Variabel Dependen
-  : Variabel Kontrol

G. Hipotesis Penelitian

1. Hipotesis Nol (H_0)

Tidak ada efek pemberian diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak dalam waktu jangka panjang terhadap fungsi ginjal dan fungsi hati pada tikus galur *Wistar* jantan

2. Hipotesis Alternatif (H_a)

Ada efek pemberian diet tinggi protein, rendah karbohidrat dan rendah lemak dalam waktu jangka panjang terhadap fungsi ginjal dan fungsi hati pada tikus galur *Wistar* jantan

H. Definisi Operasional

Tabel 7. Definisi operasional penelitian

No	Variabel	Definisi Operasional	Unit	Skala
1.	Diet Tinggi Protein, Rendah Karbohidrat dan Rendah Lemak	Pakan diet dengan komposisi protein >70%, karbohidrat <10% dan lemak 10-20% dengan pengaturan komposisinya menggunakan aplikasi <i>Nutrisurvey</i> . Dan diujikan di Laboratorium Kimia Pakan Fakultas Peternakan Unhas	g	Rasio
2.	Mikroalbuminuria (MAU)	Uji adanya mikroalbuminuria dengan menggunakan dipstik urinalisis yang dinilai secara kuantitatif dengan menggunakan alat <i>Urine Analyzer</i> merek Verify U120.	mg/dl	Rasio
3.	Kadar Alanin aminotransferase (ALT)	Kadar ALT dalam serum tikus yang diperiksa dengan alat Humalyzer 3500 dengan nilai normal 43,9-83,2 UI/L pada tikus	UI/L	Rasio
4.	Kadar Aspartat aminotransferase (AST)	Kadar AST dalam serum tikus yang diperiksa dengan alat Humalyzer 3500 dengan nilai normal 53,8-140,1 UI/L pada tikus	UI/L	Rasio
5.	Kadar alkaline phosphatase (ALP)	Kadar ALP dalam serum tikus yang diperiksa dengan alat Humalyzer 3500 dengan nilai normal 44-118 UI/L pada tikus	UI/L	Rasio
6.	Histologi Ginjal	Data hasil pengamatan mikroskopis pada struktur sel atau jaringan organ ginjal (glomerulus dan tubulus) dianalisis secara deskriptif	skoring	Ordinal
7.	Histologi Hati	Data hasil pengamatan mikroskopis pada struktur sel atau jaringan organ hati dianalisis secara deskriptif	skoring	Ordinal